

- Báo Chăn nuôi Việt Nam**, 2016. *Tình hình sản xuất chăn nuôi*, ngày truy cập: 7/3/2017. Địa chỉ: <http://channuoivietnam.com/tinh-hinh-san-xuat-chan-nuoi-3>.
- Lê Quý Kha**, 2005. *Nghiên cứu khả năng chịu hạn và một số biện pháp kỹ thuật phát triển giống ngô lai cho vùng canh tác bằng nước trời*. Luận văn Tiến sĩ Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.
- Ngô Hữu Tình, Nguyễn Đình Hiền**, 1996. *Các phương pháp lai thử và phân tích khả năng kết hợp trong các thí nghiệm về ưu thế lai*. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
- Trung tâm Khảo Kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia**, 2014. Báo cáo kết quả khảo nghiệm cơ bản giống ngô lai ở các tỉnh phía Bắc vụ Xuân 2014.
- Trung tâm Khảo Kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia**, 2015. Báo cáo kết quả khảo nghiệm cơ bản giống ngô lai ở các tỉnh phía Bắc vụ Xuân 2015.
- Trung tâm Khảo Kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia**, 2015. Báo cáo kết quả khảo nghiệm cơ bản giống ngô lai ở các tỉnh phía Bắc vụ Đông 2015.
- Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam**, 2015. *Nhập khẩu ngô năm 2014 tăng mạnh*, truy cập ngày 15/6/2016. Địa chỉ: <http://iasvn.org/homepage/Nhap-khau-ngo-nam-2014-tang-manh-6308.html>.
- Blum, A.**, 1988. *Plant Breeding for Stress Environment*. CRC press, Boca Raton, Florida, 156.
- Camacho, R.SG., and D.F. Caraballo**, 1994. Evaluation of morphological characteristics in Venezuelan maize (*Zea mays* L.) genotypes under drought stress. *Scientia Agricola*, 51(3): 453-458.

## Breeding of drought tolerance hybrid maize AVA559

Nguyen Tien Truong, Bui Van Hieu,  
Bui Thị Hoa, Do Viet Tiep, Vu Duy Tuan

### Abstract

The new maize hybrid AVA559 was released by the National Maize Research Institute from crossed combination D30 × D37, of which, D30 line was developed from PA33 variety by combining fullsib and selfing method and D37 was created from crossed combination CP999 by selfing method. The result of breeding and testing showed that AVA559 was a medium early maturing maize hybrid (107 to 112 days in spring crops in Northern provinces). AVA559 was a hybrid maize that had good drought tolerance, good resistance to some major pests and diseases (Stiff: 2.0 - 3.0; Rust 2.0 - 2.5), wide adaptability, high and stable yield (52.95 - 99.42 quintals/ha in Spring crop and Summer Spring crop; 53.20 - 82.21 quintals/ha in Winter crop).

**Keywords:** AVA559, good drought tolerance, high yield, wide adaptation

Ngày nhận bài: 27/3/2019

Ngày phản biện: 8/4/2019

Người phản biện: TS. Nguyễn Hữu Phúc

Ngày duyệt đăng: 14/6/2019

## ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN NGUỒN GEN CÂY MĂNG CẦU TA BẰNG TÍNH TRẠNG HÌNH THÁI VÀ CHỈ THỊ RAPD

Nguyễn Văn Sơn<sup>1</sup>, Võ Thị Xuân Trang<sup>1</sup>, Trịnh Thị Vân Anh<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Việc sử dụng chỉ thị hình thái và chỉ thị RAPD để đánh giá mức độ đa dạng di truyền giữa 15 mẫu giống măng cầu ta Bình Thuận sẽ góp phần phục vụ công tác thu thập, phân loại, đánh giá và bảo tồn nguồn gen. Kết quả đánh giá các tính trạng hình thái cho thấy, các mẫu giống măng cầu ta có mức đa hình cao, với khoảng cách đa hình từ 0,33 đến 0,72. 15 chỉ thị RAPD đều cho đa hình; tuy nhiên, số phân đoạn đa hình trên từng mẫu có sự biến động lớn. Tất cả các chỉ thị tạo ra được tổng số 149 phân đoạn và dựa vào sơ đồ quan hệ di truyền có thể chia 15 cá thể thành 2 nhóm với hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,36 đến 1,00. Trong đó, nhóm I gồm 5 cá thể và nhóm II gồm 10 cá thể.

**Từ khóa:** Măng cầu ta, đa dạng di truyền, đặc tính hình thái, RAPD

<sup>1</sup>Viện Nghiên cứu Bông và Phát triển Nông nghiệp Nha Hồ

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mãng cầu ta hay na (*Annona squamosa* L.) có nguồn gốc ở vùng nhiệt đới nên thích hợp với khí hậu ẩm áp và khô. Tuy vậy, cây vẫn sinh trưởng được trong điều kiện nóng ẩm. Cây măng cầu ta không kén đất, chịu hạn tốt, không thích đất úng. Đất cát sỏi, đất thịt nặng, đất có vỏ sò, hến, đất đá vôi đều trồng được măng cầu ta. Nhưng tốt nhất là đất có tầng canh tác dày, đất rừng mới khai phá, đất đồi ven sông suối, đất chân núi đá vôi thoát nước nhiều mùn giàu dinh dưỡng là thích hợp hơn cả, độ pH: 5,5 - 7,4. Mãng cầu ta ưa khô để rụng lá và sẽ mọc chồi hoa. Ở Bà Rịa - Vũng Tàu và Bình Thuận, vào mùa khô sau khi thu hoạch quả xong, cây măng cầu ta rụng lá một phần (Trần Thế Tục, 1998).

Để có cơ sở khoa học cho công tác bảo tồn nguồn gen đạt hiệu quả cao, trước tiên cần tiến hành đánh giá sự đa dạng di truyền của các cá thể măng cầu ta Bình Thuận hiện đang trồng. Có rất nhiều kỹ thuật phân tích sinh học phân tử được sử dụng để đánh giá sự đa dạng di truyền của các loài động - thực vật, trong đó kỹ thuật RAPD được sử dụng khá rộng rãi bởi sự đơn giản nhưng vẫn cho kết quả có thể tham khảo (Bharad *et al.*, 2009). Trong những năm gần đây, kỹ thuật RAPD đã được sử dụng nhiều trong đánh giá sự đa dạng di truyền của các loài cây thuộc chi *Annona* (Suratman *et al.*, 2015; Guimarães

*et al.*, 2013). Xuất phát từ thực tiễn trên, nghiên cứu: “Đánh giá đa dạng di truyền nguồn gen cây măng cầu ta tại tỉnh Bình Thuận bằng chỉ thị hình thái và chỉ thị phân tử RAPD” được tiến hành.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu gồm 15 mẫu giống thuộc 3 giống măng cầu ta (MC01, MC02 và MC03) được thu thập trong tỉnh Bình Thuận (Bảng 1) và 30 chỉ thị RAPD (Bảng 2).

Các thiết bị và dụng cụ chính dùng cho nghiên cứu:

- Máy PCR iCycler™ Thermal Cycler 170-8731, Bio-Rad, Mỹ.
- Máy li tâm EBA20, Hettich, Đức.
- Dụng cụ phục vụ cho thu mẫu lá: Bình đựng nitơ lỏng, ống eppendorf 2ml khử trùng sấy khô, kéo, panh, và găng tay.
- Đũa thủy tinh khử trùng đặt trong tủ âm.
- Bể ổn nhiệt ở 65°C; Máy đo quang phổ Genova-MK3 hãng Jenway - Anh.
- Máy Prime Thermal Cyclers hãng Techne-Anh dùng cho phản ứng PCR-RAPD.
- Bộ điện di Elite 300 plus.

**Bảng 1.** Danh sách và địa điểm thu thập 15 mẫu măng cầu ta tại tỉnh Bình Thuận

Mẫu	Địa điểm thu thập	Toạ độ	Tuổi cây	Nguồn gốc
C1 (MC01)	Hồng Phong - Bắc Bình	[N11°12'56.9"E108°28'13.0"]	7 năm	Giống địa phương
C2 (MC01)	Hồng Phong - Bắc Bình	[N11°12'56.9"E108°28'13.0"]	7 năm	Giống địa phương
C3 (MC01)	Hồng Phong - Bắc Bình	[N11°12'56.9"E108°28'13.0"]	7 năm	Giống địa phương
C4 (MC01)	Hồng Phong - Bắc Bình	[N11°12'56.9"E108°28'13.0"]	7 năm	Giống địa phương
C5 (MC01)	Hồng Phong - Bắc Bình	[N11°12'56.9"E108°28'13.0"]	7 năm	Giống địa phương
C6 (MC02)	Hồng Sơn - Hàm Thuận Bắc	[N11°05'25.8"E108°11'18.2"]	9 năm	Giống địa phương
C7 (MC02)	Hồng Sơn - Hàm Thuận Bắc	[N11°05'25.8"E108°11'18.2"]	9 năm	Giống địa phương
C8 (MC02)	Hồng Sơn - Hàm Thuận Bắc	[N11°05'25.8"E108°11'18.2"]	9 năm	Giống địa phương
C9 (MC02)	Hồng Sơn - Hàm Thuận Bắc	[N11°05'25.8"E108°11'18.2"]	9 năm	Giống địa phương
C10 (MC02)	Hồng Sơn - Hàm Thuận Bắc	[N11°05'25.8"E108°11'18.2"]	9 năm	Giống địa phương
C11 (MC03)	Hàm Cường - Hàm Thuận Nam	[N10°53'59.0"E107°56'54.3"]	7 năm	Bà Rịa - Vũng Tàu
C12 (MC03)	Hàm Cường - Hàm Thuận Nam	[N10°53'59.0"E107°56'54.3"]	7 năm	Bà Rịa - Vũng Tàu
C13 (MC03)	Hàm Cường - Hàm Thuận Nam	[N10°53'59.0"E107°56'54.3"]	7 năm	Bà Rịa - Vũng Tàu
C14 (MC03)	Hàm Cường - Hàm Thuận Nam	[N10°53'59.0"E107°56'54.3"]	7 năm	Bà Rịa - Vũng Tàu
C15 (MC03)	Hàm Cường - Hàm Thuận Nam	[N10°53'59.0"E107°56'54.3"]	7 năm	Bà Rịa - Vũng Tàu

**Bảng 2.** Danh sách và trình tự của 30 chỉ thị RAPD trong nghiên cứu

Kí hiệu chỉ thị	Tên chỉ thị	Trình tự	Kí hiệu chỉ thị	Tên chỉ thị	Trình tự
M1	OPA-02	5'-TGCCGAGCTG-3'	M16	OPG-05	5'-CTGAGACGGA-3'
M2	OPA-09	5'-GGGTAACGCC-3'	M17	OPH-11	5'-CTTCCGCAGT-3'
M3	OPA-11	5'-CAATCGCCGT-3'	M18	OPJ-20	5'-AAGCGGCCTC-3'
M4	OPB-01	5'-GTTTCGCTCC-3'	M19	OPL-03	5'-CCAGCAGCTT-3'
M5	OPB-05	5'-GGTCGCAGTT-3'	M20	OPM-08	5'-TCTGTTCCCC-3'
M6	OPB-07	5'-GGTGACGCAG-3'	M21	OPN-11	5'-TCGCCGCAAA-3'
M7	OPB-08	5'-GTCCACACGG-3'	M22	OPO-10	5'-TCAGAGCGCC-3'
M8	OPB-10	5'-CTGCTGGGAC-3'	M23	OPQ-11	5'-GACAGGAGGT-3'
M9	OPB-12	5'-CCTTGACGCA-3'	M24	OPQ-19	5'-GGTGCACGTT-3'
M10	OPB-15	5'-GGAGGGTGT-3'	M25	OPV-14	5'-AGATCCCGCC-3'
M11	OPC-14	5'-TGCGTGCTTG-3'	M26	OPV-15	5'-CAGTGCCGGT-3'
M12	OPD-04	5'-TCTGGTGAGG-3'	M27	OPW-02	5'-ACCCCGCCAA-3'
M13	OPE-05	5'-TCAGGGAGGT-3'	M28	OPX-14	5'-ACAGGTGCTG-3'
M14	OPF-10	5'-GGAAGCTTGG-3'	M29	OPY-20	5'-AGCCGTGGAA-3'
M15	OPF-19	5'-CCTCTAGACC-3'	M30	OPZ-18	5'-AGCCGTGGAA-3'

Nguồn: Bharad *et al.* (2009); Guimarães *et al.* (2013).

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Thực hiện thí nghiệm

- Thí nghiệm đồng ruộng được đánh giá trên 5 cây thực sinh có các tính trạng đặc trưng của 3 giống măng cầu ta hiện có tại Bình Thuận gồm: giống MC01 ở xã Hồng Phong - huyện Bắc Bình, giống MC02 ở xã Hồng Sơn - huyện Hàm Thuận Bắc và giống MC03 ở xã Hàm Cường - huyện Hàm Thuận Nam, trong hai năm 2018 và 2019. Khảo sát 18 tính trạng hình thái và chất lượng quả: dạng thân, dạng tán, dạng lá, dạng quả, màu lá, màu hoa, màu quả, đường kính trung bình của quả (cm), khối lượng trung bình của quả (g), số quả/cây, tỷ lệ thịt quả (%), hàm lượng nước của quả (%), độ Brix, hàm lượng axit (%), số hạt trung bình/quả, độ dai thịt quả, độ ráo thịt quả và hương vị thịt quả. Các chỉ tiêu theo dõi theo quy trình đo đếm, quan trắc của Trung tâm Tài nguyên Di truyền thực vật Việt Nam và IPGRI.

- Thí nghiệm đánh giá đa dạng di truyền bằng chỉ thị phân tử được thực hiện tại phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học của Viện Nghiên cứu Bông và Phát triển Nông nghiệp Nha Hồ, cụ thể:

Tiến hành thu 200 mg lá non của các mẫu giống măng cầu ta. DNA tổng số của các mẫu giống măng cầu ta được tách chiết bằng phương pháp SDS 3%

và  $\beta$ -Mercaptoethanol (Porebski *et al.*, 1997) có hiệu chỉnh. Protein được loại bỏ bằng hỗn hợp Phenol : Chloroform : Isopropanol (25 : 24 : 1) 2 lần và Chloroform : Isopropanol (24 : 1) 2 lần. Tiếp theo dung dịch DNA được cho kết tủa qua đêm bằng Isopropanol trong tủ lạnh  $-20^{\circ}\text{C}$ , sau đó li tâm thu cặn và cặn được rửa 3 lần với Ethanol 70%, sau đó để tự khô ở nhiệt độ phòng. DNA tổng số được kiểm tra, pha loãng đến nồng độ 50 ng/ $\mu\text{l}$  và lưu trữ trong 1X TE ở  $-20^{\circ}\text{C}$  đến khi sử dụng.

Thành phần phản ứng PCR-RAPD gồm 10 $\mu\text{l}$ 2X GoTaq<sup>®</sup> G2 Green Master Mix (Taq DNA Polymerase, 400 $\mu\text{M}$  dATP, 400 $\mu\text{M}$  dGTP, 400 $\mu\text{M}$  dCTP, 400 $\mu\text{M}$  dTTP và 3mM MgCl<sub>2</sub>); 1 $\mu\text{l}$  mỗi (10pM/ $\mu\text{l}$ ); 2 $\mu\text{l}$  50ng/ $\mu\text{l}$  DNA khuôn; thêm nước cất đến thể tích 20 $\mu\text{l}$ /phản ứng. Chu trình nhiệt gồm các giai đoạn tiền biến tính 94 $^{\circ}\text{C}$ : 5 phút (1 chu kỳ); biến tính 94 $^{\circ}\text{C}$ : 60 giây, bắt cặp 37 $^{\circ}\text{C}$ : 30 giây, kéo dài 72 $^{\circ}\text{C}$ : 60 giây (45 chu kỳ); kết thúc 72 $^{\circ}\text{C}$ : 54 phút (1 chu kỳ). Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1% để xác định sự hiện diện/vắng mặt của các băng DNA.

### 2.2.2. Thu thập và phân tích số liệu

Phương pháp phân tích bằng chỉ thị hình thái: Số liệu định lượng được tính trung bình bằng chương trình Excel 2016. Hệ số tương đồng di truyền Jaccard

và phương pháp NTSYSpc 2.02e (Jamshidi, 2011) được sử dụng để phân tích, đánh giá đa dạng di truyền và phân nhóm (cây di truyền) các mẫu giống măng cầu ta nghiên cứu dựa trên 18 tính trạng

Phương pháp phân tích sử dụng chỉ thị phân tử: Kết quả chạy PCR của từng chỉ thị RAPD cho tất cả các mẫu giống măng cầu ta nghiên cứu thể hiện sự có mặt hay vắng mặt các alen được ghi nhận là 0 (không có băng DNA) và 1 (có băng DNA) ở cùng một vị trí locus. Các số liệu này được nhập vào chương trình NTSYSpc 2.02e để xây dựng ma trận tương đồng di truyền sử dụng hệ số Dice. Tiếp theo, sơ đồ hình cây biểu diễn mối quan hệ di truyền giữa các mẫu giống măng cầu ta nghiên cứu được xây dựng bằng phương pháp phân nhóm UPGMA.

### 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 01/2018 đến tháng 5/2019.

- Địa điểm nghiên cứu:

+ Đánh giá chỉ thị phân tử: Tại phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học của Viện Nghiên cứu Bông và Phát triển Nông nghiệp Nha Hồ.

+ Đánh giá chỉ thị hình thái: 05 cây của giống MC01 tại huyện Bắc Bình, 05 cây MC02 tại huyện

Hàm Thuận Bắc và 05 cây MC03 tại huyện Hàm Thuận Nam.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả đánh giá đa dạng di truyền bằng chỉ thị hình thái

#### 3.1.1. Một số đặc điểm hình thái chính và các yếu tố cấu thành năng suất của các mẫu giống măng cầu ta Bình Thuận hiện có

Kết quả đánh giá 15 mẫu giống cho thấy, các chỉ thị hình thái gồm dạng thân, dạng tán, màu sắc lá, màu hoa, dạng quả và màu quả có đặc điểm tương đồng nhau. Riêng dạng lá có sự khác nhau giữa các mẫu giống khảo sát: các mẫu giống của 2 giống MC01 và MC03 có dạng hình thuôn dài, riêng các mẫu giống của giống MC02 có dạng elip. Đối với các chỉ tiêu yếu tố cấu thành năng suất, các mẫu giống của giống MC01 có đường kính quả trung bình tương đối nhỏ (> 7,0 cm), khối lượng quả trung bình và số quả/cây nhỏ hơn các mẫu giống của hai giống măng cầu MC02 và MC03. Các mẫu giống của 02 giống MC02 và MC03 có các chỉ tiêu yếu tố cấu thành năng suất tương đương nhau (Bảng 3 và 4).

**Bảng 3.** Một số đặc điểm hình thái của các mẫu giống măng cầu ta tại tỉnh Bình Thuận trong năm 2018

Ký hiệu mẫu giống	Dạng thân		Dạng tán		Dạng lá		Dạng quả		Màu lá	
	Chữ	Số	Chữ	Số	Chữ	Số	Chữ	Số	Chữ	Số
MC01-1	Gỗ	1	Bán cầu	1	Thuôn dài	1	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC01-2	Gỗ	1	Bán cầu	1	Thuôn dài	1	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC01-3	Gỗ	1	Bán cầu	1	Thuôn dài	1	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC01-4	Gỗ	1	Bán cầu	1	Thuôn dài	1	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC01-5	Gỗ	1	Bán cầu	1	Thuôn dài	1	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC02-1	Gỗ	1	Bán cầu	1	Elip	2	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC02-2	Gỗ	1	Bán cầu	1	Elip	2	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC02-3	Gỗ	1	Bán cầu	1	Elip	2	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC02-4	Gỗ	1	Bán cầu	1	Elip	2	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC02-5	Gỗ	1	Bán cầu	1	Elip	2	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC03-1	Gỗ	1	Bán cầu	1	Thuôn dài	1	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC03-2	Gỗ	1	Bán cầu	1	Thuôn dài	1	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC03-3	Gỗ	1	Bán cầu	1	Thuôn dài	1	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC03-4	Gỗ	1	Bán cầu	1	Thuôn dài	1	Hình cầu	1	Xanh đậm	1
MC03-5	Gỗ	1	Bán cầu	1	Thuôn dài	1	Hình cầu	1	Xanh đậm	1

**Bảng 4.** Một số đặc điểm hình thái và các yếu tố cấu thành năng suất của các mẫu giống măng cầu ta tại tỉnh Bình Thuận trong năm 2018

Ký hiệu mẫu giống	Màu hoa		Màu quả		Đường kính TB quả (cm)	Khối lượng TB quả (g)	Số quả/ cây (quả)
	Chữ	Số	Chữ	Số			
MC01-1	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	7,5	187,6	30
MC01-2	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	7,2	187,5	31
MC01-3	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	7,5	188,6	33
MC01-4	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	7,4	187,5	32
MC01-5	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	7,3	186,9	30
SD	-	-	-	-	0,13	0,61	-
MC02-1	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	10,5	200,5	70
MC02-2	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	10,0	205,2	65
MC02-3	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	11,0	201,3	75
MC02-4	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	10,0	205,1	76
MC02-5	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	10,0	210,4	69
SD	-	-	-	-	0,45	3,93	-
MC03-1	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	9,5	200,4	55
MC03-2	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	10,0	200,0	59
MC03-3	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	9,0	205,6	56
MC03-4	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	9,5	202,2	57
MC03-5	Xanh vàng	1	Xanh nhạt	1	9,5	205,5	58
SD	-	-	-	-	0,35	2,70	-

Ghi chú: TB: Trung bình.

### 3.1.2. Một số chỉ tiêu chất lượng quả của các mẫu giống măng cầu ta Bình Thuận

**Bảng 5.** Một số chỉ tiêu chất lượng quả của các mẫu giống măng cầu ta tại tỉnh Bình Thuận trong năm 2018

Ký hiệu mẫu giống	Tỷ lệ thịt quả (%)	HL nước (%)	Độ Brix	HL axit (%)	Số hạt TB/quả (hạt)	Độ dai thịt quả		Độ ráo thịt quả		Hương vị	
MC01-1	55,2	87,6	15,2	0,17	26,8	Bở	1	Nhào	1	Ít thơm	1
MC01-2	53,1	87,4	14,6	0,18	26,5	Bở	1	Nhào	1	Ít thơm	1
MC01-3	50,3	86,6	15,1	0,18	27,5	Bở	1	Nhào	1	Ít thơm	1
MC01-4	51,4	88,8	15,5	0,17	27,4	Bở	1	Nhào	1	Ít thơm	1
MC01-5	51,6	87,9	15	0,16	26,8	Bở	1	Nhào	1	Ít thơm	1
SD	1,89	0,80	0,33	0,01	0,43	-	-	-	-	-	-
MC02-1	65,6	69,5	18,6	0,13	20,6	Dai	2	Ráo	2	Thơm	2
MC02-2	64,5	70,6	19,8	0,11	20,4	Dai	2	Ráo	2	Thơm	2
MC02-3	68,9	70,2	20,5	0,11	21,5	Dai	2	Ráo	2	Thơm	2
MC02-4	66,5	69,8	19,6	0,10	20,4	Dai	2	Ráo	2	Thơm	2
MC02-5	67,8	69,8	18,7	0,12	20,6	Dai	2	Ráo	2	Thơm	2
SD	1,74	0,43	0,80	0,01	0,46	-	-	-	-	-	-
MC03-1	67,2	63,3	18,6	0,11	23,6	Dai	2	Ráo	2	Thơm	2
MC03-2	66,8	64,1	17,6	0,12	24,4	Dai	2	Ráo	2	Thơm	2
MC03-3	66,5	63,5	18,9	0,12	23,2	Dai	2	Ráo	2	Thơm	2
MC03-4	65,6	63,3	18,6	0,12	23,5	Dai	2	Ráo	2	Thơm	2
MC03-5	64,8	64,5	18,5	0,12	23,4	Dai	2	Ráo	2	Thơm	2
SD	0,97	0,54	0,49	0,00	0,46	-	-	-	-	-	-

Ghi chú: HL: Hàm lượng; TB: Trung bình.



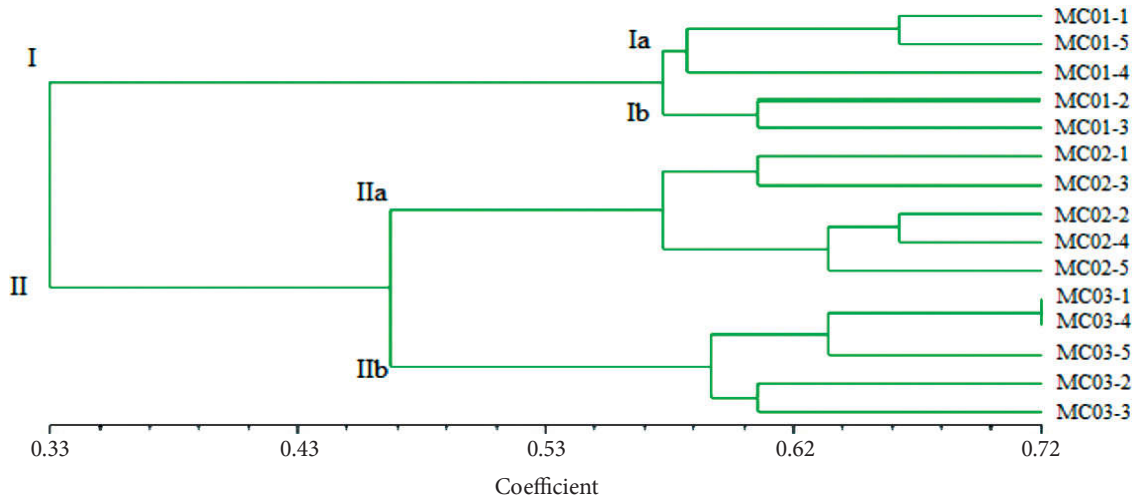
Kết quả phân tích các chỉ tiêu chất lượng quả cho thấy, các mẫu giống của hai giống MC02 và MC03 có tỷ lệ thịt quả > 60% và độ Brix > 18 tương đương nhau và cao hơn các mẫu giống của giống MC01 (tỷ lệ thịt quả < 60% và độ Brix < 16). Ngoài ra, các chỉ tiêu về hàm lượng nước, hàm lượng axit và số hạt trung bình/quả các mẫu giống của hai giống măng cầu MC02 và MC03 cũng thấp hơn (tốt hơn) so với giống MC01. Các mẫu giống của hai giống MC02 và MC03 thuộc nhóm măng cầu dai, thịt quả ráo và thơm, còn các mẫu giống của giống MC01 thuộc nhóm măng cầu bở, thịt quả nhão và ít thơm hơn (Bảng 5).

**3.1.3. Phân nhóm di truyền của các mẫu giống măng cầu ta tại tỉnh Bình Thuận**

Kết quả đánh giá mức độ di truyền của 15 mẫu giống măng cầu ta dựa trên 18 tính trạng hình thái

(Bảng 3 và 4) cho thấy, hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,33 đến 0,72. Điều này chứng tỏ các mẫu giống măng cầu ta có mức độ đa dạng cao về mặt di truyền (Hình 1).

Nếu xét ở mức độ tương đồng 0,33; 15 mẫu giống măng cầu ta nghiên cứu được chia làm 2 nhóm chính như sau: Nhóm 1 gồm 5 mẫu giống MC01-1, MC01-2, MC01-3, MC01-4 và MC01-5; Nhóm 2 gồm 10 mẫu giống: MC02-1, MC02-2, MC02-3, MC02-4, MC02-5, MC03-1, MC03-2, MC03-3, MC03-4 và MC03-5. Đây là nhóm có hệ số tương đồng dao động 0,47 đến 0,72. Trong nhóm này có 10 mẫu giống nhưng thuộc 2 giống MC02 (giống địa phương) và giống MC03 (mua ở Đồng Nai), 2 giống này có đặc điểm hình thái, nông sinh học gần giống nhau.



Hình 1. Sơ đồ quan hệ di truyền 15 mẫu giống nghiên cứu dựa vào chỉ thị hình thái

**3.2. Kết quả đa dạng di truyền bằng chỉ thị phân tử RADP**

**3.2.1. Tính đa hình về phân đoạn DNA của 15 chỉ thị ngẫu nhiên**

Phân tích mối quan hệ di truyền của 15 mẫu giống măng cầu ta thu thập tại Bình Thuận bằng 30 chỉ thị RAPD cho thấy, tất cả các chỉ thị đều cho đa hình, trong đó chọn được 15 chỉ thị RAPD cho tỉ lệ đa hình cao thể hiện sự xuất hiện vạch DNA sáng rõ rệt, không đứt gãy với các kích thước khác nhau và có tính ổn định cao tương ứng với các mẫu DNA tổng số của cây măng cầu ta.

Kết quả đa hình di truyền ghi nhận từ phản ứng PCR-RAPD với 15 chỉ thị RAPD trong nghiên cứu

này cho thấy các phân đoạn DNA được khuếch đại tốt trên 15 mẫu giống măng cầu ta, với tổng số phân đoạn khuếch đại là 159; trong đó, số phân đoạn đa hình là 149; trung bình số phân đoạn/primer là 10,6. Các phân đoạn DNA được khuếch đại từ phản ứng PCR khi sử dụng primer M10 (OPF-10) có tính đa hình di truyền cao nhất (15 phân đoạn đa hình), và thấp nhất là chỉ thị M2 (OPG-050) (7 phân đoạn đa hình). Kích thước các phân đoạn thu được dao động trong khoảng kích thước từ 220 - 1900 bp. Sự khác biệt về kích thước trên các phân đoạn DNA điện di chính là cơ sở phân tích mối quan hệ di truyền của tất cả các cá thể trong quần thể hoặc giữa các quần thể với nhau trong nghiên cứu.

**Bảng 6.** Tính đa hình về phân đoạn DNA được khuếch đại của 15 chỉ thị ngẫu nhiên

Mỗi	Số phân đoạn DNA khuếch đại	Số phân đoạn đa hình	Số phân đoạn đồng hình	Tỷ lệ phân đoạn đa hình (%)	Kích thước băng (bp)
M1	11	11	0	100,0	220 - 1700
M2	10	7	3	100,0	250 - 1900
M3	10	10	0	100,0	240 - 1800
M4	10	10	0	90,9	230 - 1700
M5	11	10	0	93,7	240 - 1700
M6	9	9	0	100,0	310 - 1700
M7	11	10	1	90,9	280 - 1600
M8	10	10	0	100,0	260 - 1600
M9	12	10	2	83,3	270 - 1800
M10	15	15	0	100,0	280 - 1800
M11	10	8	2	80,0	300 - 1800
M12	11	10	1	70,0	320 - 1800
M13	10	10	0	90,9	300 - 1200
M14	10	9	1	100,0	300 - 1000
M15	9	8	1	90,0	280 - 1700
TB	10,6	9,9		88,9	
Tổng số	159	149			
Biến động					220 - 1900

**3.2.2. Kết quả phân tích đa dạng di truyền của 15 cá thể/mẫu giống măng cầu ta**

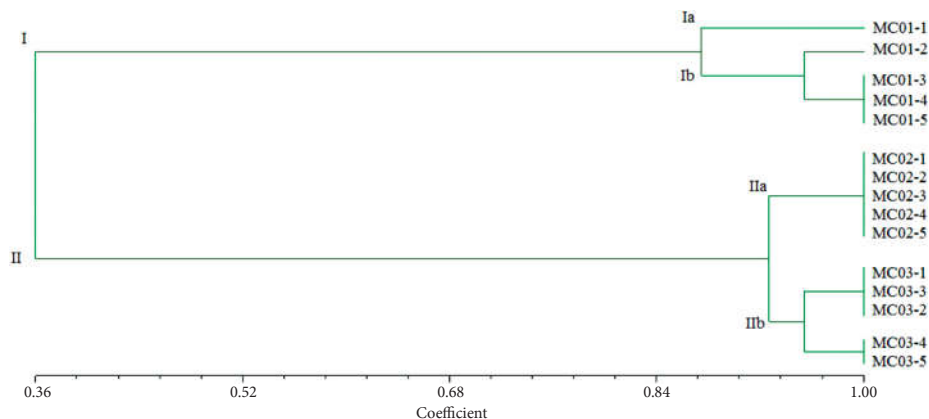
Kết quả sự đa dạng di truyền giữa 15 mẫu giống măng cầu ta tại tỉnh Bình Thuận được thể hiện trong sơ đồ hình cây phân nhóm UPGMA (Hình 2) cho thấy, khoảng cách đa dạng di truyền của 15 mẫu giống măng cầu ta nghiên cứu dao động từ 0,36

đến 1,00. Trong đó, tại hệ số tương đồng di truyền trung bình là 0,36 thì 15 mẫu giống măng cầu ta đã phân tách thành 2 nhóm lớn riêng biệt:

Nhóm I gồm 5 mẫu giống và chia làm hai nhóm phụ Ia có 1 mẫu giống MC01-1 với hệ số tương đồng đạt 0,87; Nhóm phụ Ib có 4 mẫu giống MC01-2, MC01-3, MC01-4 và MC01-5, trong đó 3 mẫu MC01-3, MC01-4 và MC01-5 có mối quan hệ rất gần nhau về mặt di truyền với hệ số tương đồng 1,00; thực tế cho thấy chúng đều xuất phát từ chung một nguồn gốc giống măng cầu ta bởi MC01 với hệ số tương đồng  $\geq 0,87$ .

Nhóm II có mối quan hệ gần về mặt di truyền với hệ số tương đồng dao động từ 0,92 đến 1,00 và có thể chia nhóm này thành 2 nhóm phụ gồm nhóm phụ IIa có 5 mẫu giống là MC02-1, MC02-2, MC02-3, MC02-4, MC02-5 có mối quan hệ chặt chẽ về mặt di truyền với hệ số tương đồng di truyền đạt 0,95. Nguyên nhân có thể là do các cây này được nhân từ cùng nguồn gốc măng cầu dai MC02 nên có nền di truyền hoàn toàn giống nhau. Nhóm IIb có 5 mẫu giống là MC03-1, MC03-2, MC03-3, MC03-4 và MC03-5 có độ tương đồng di truyền biến động 0,92 - 1,00 (Hình 2). Nhóm II gồm 2 giống măng cầu ta dai MC02 là giống địa phương và giống măng cầu dai MC03 được mua từ Đồng Nai nhưng lại có hệ số tương đồng rất gần nhau chứng tỏ chúng có cùng một nguồn gốc giống.

Nghiên cứu sử dụng các chỉ thị phân tử trên măng cầu ta chưa phổ biến, tuy nhiên, nhiều nghiên cứu về chỉ thị RAPD trên các loại cây khác đã được báo cáo, chứng tỏ tiềm năng lớn cho việc ứng dụng chỉ thị RAPD trong đánh giá đa dạng di truyền làm cơ sở xác định giống cũng như góp phần bảo tồn và phát triển các giống có đặc tính quý. Trong nghiên cứu này, độ tương đồng di truyền đã được tính toán trên 15 mẫu thuộc 3 giống măng cầu ta biến động 0,36 - 1,00.



**Hình 2.** Cây phân nhóm đa hình di truyền 15 mẫu giống măng cầu ta Bình Thuận bằng phần mềm NTSYS<sub>PC</sub> 2.02e

## IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 4.1. Kết luận

Phân tích đa dạng di truyền của 15 mẫu giống măng cầu ta tại tỉnh Bình Thuận dựa trên 18 đặc điểm hình thái và 15 chỉ thị sinh học phân tử đã khẳng định được mức độ đa dạng di truyền của 15 mẫu giống măng cầu ta. Dựa vào chỉ thị hình thái có thể chia 15 mẫu giống măng cầu ta thành 2 nhóm di truyền khác biệt nhau. Phân tích đa dạng di truyền bằng sử dụng chỉ thị phân tử RAPD nhận biết được 15 chỉ thị cho mức độ đa hình cao và 15 mẫu giống măng cầu ta phân thành 2 nhóm di truyền khác biệt nhau. Qua phân tích đa dạng di truyền bằng chỉ thị hình thái và chỉ thị phân tử thấy rằng 2 giống măng cầu ta MC02 và MC03 có mối quan hệ di truyền gần nhau. Kết quả nghiên cứu dù sự khác biệt không lớn nhưng có thể ứng dụng khác biệt này trong các chương trình chọn tạo giống mới theo các mục đích khác nhau.

### 4.2. Đề nghị

Ứng dụng kết quả nghiên cứu này làm cơ sở cho bảo tồn nguồn gen măng cầu ta Bình Thuận; đồng thời làm cơ sở cho chương trình chọn giống măng cầu mới theo các mục đích khác nhau.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Trần Thế Tục, 1998. *Kỹ thuật trồng xoài, na, đu đủ, hồng xiêm*. Nhà xuất bản Nông nghiệp. Hà Nội.
- Bharad, S.G., P.L. Kulwal and S.A. Bagal, 2009. Genetic Diversity Study in *Annona squamosa* by Morphological,

Biochemical and RAPD Markers. *Acta Hort.*, (839): 615-623.

- Guimarães, J.F.R., S. Nietzsche, M.R. Costa, G.B.R. Moreira, M.C.T. Pereira and W. Vendrame, 2013. Genetic diversity in sugar apple (*Annona squamosa* L.) by using RAPD markers. *Revista Ceres*, 60(3): 428-431.
- Jamshidi, S., 2011. NTSYSpc 2.02e implementation in molecular biodata analysis (clustering, screening, and individual selection). *IPCBE*, 19: 165-169.
- João Filipi Rodrigues Guimarães, Silvia Nietzsche, Márcia Regina Costa, Glaucia Bethania Rocha Moreira, Marlon Cristian Toledo Pereira, Wagner Vendrame, 2013. Genetic diversity in sugar apple (*Annona squamosa* L.) by using RAPD markers. *Revista Ceres*, 60 (3): 428-431.
- Porebski, S., L.G. Bailey, B.R. Baum, 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant molecular biology reporter*, 8-15.
- Porebski, S., L.G. Bailey and B.R. Baum, 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant molecular biology reporter*, 15(1): 8-15.
- Suratman Ari pitoyo, Sri mulyani, Suranto, 2015. Assessment of genetic diversity among soursop (*Annona muricata*) populations from Java, Indonesia using RAPD markers. *Biodiversitas* 16: 247-253.
- Suratman, Ari pitoyo, Sri mulyani, Suranto, 2015. Assessment of genetic diversity among soursop (*Annona muricata*) populations from Java, Indonesia using RAPD markers. *Biodiversitas*, 16: 247-253.

## Evaluation of genetic diversity of sugar apple by morphological traits and RAPD markers

Nguyen Van Son, Vo Thi Xuan Trang, Trinh Thi Van Anh

### Abstract

The use of morphological traits and RAPD markers to evaluate genetic diversity among 15 individuals of three custard apple varieties in Binh Thuan will contribute to the collection, classification, evaluation and conservation. The results showed that the level of genetic polymorphism based on morphological traits was high with polymorphic distance from 0.33 to 0.72. 15 RAPD primers had polymorphic bands; however, the number of polymorphic bands of each sample was varied. All primers created a total of 149 bands and based on genetic relationship diagrams, 15 individuals were divided into 2 groups with genetic similarities ranging from 0.36 to 1. In particular, group I consisted of 5 individuals and group II included 10 individuals

**Keywords:** Sugar apple, morphological traits, genetic diversity, RAPD markers

Ngày nhận bài: 14/8/2019  
Ngày phản biện: 31/8/2019

Người phản biện: TS. Nguyễn Ngọc Thi  
Ngày duyệt đăng: 9/9/2019



## PHÂN TÍCH ĐA DẠNG DI TRUYỀN CÁC LOÀI SÂM VIỆT NAM BẰNG CHỈ THỊ PHÂN TỬ GEN NHÂN

Lê Hùng Linh<sup>1</sup>, Phạm Thu Nga<sup>1</sup>, Lê Hà Minh<sup>1</sup>, Khuất Thị Mai Lương<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Sử dụng chỉ thị phân tử gen nhân cho phân tích đa dạng di truyền, nhận dạng loài/giống sâm có ý nghĩa quan trọng trong công tác chọn lọc và phát triển giống sâm chất lượng cao. Trong nghiên cứu này, 17 chỉ thị phân tử gen nhân đã được thiết kế và sử dụng để phân tích di truyền kiểu gen 19 mẫu sâm Ngọc Linh thu thập tại Kon Tum và Quảng Nam, 03 mẫu sâm Lai Châu, 01 mẫu tam thất hoang và 01 mẫu sâm Vũ Diệp của Việt Nam. Kết quả cho thấy, các chỉ thị thể hiện sự đa hình cao và hệ số tương đồng di truyền của 24 mẫu sâm nghiên cứu dao động từ 48% đến 93%. Đặc biệt, kết quả chỉ ra rằng các mẫu sâm Ngọc Linh nghiên cứu không đồng nhất, rất đa dạng về kiểu gen.

**Từ khóa:** Sâm Việt Nam, đa dạng di truyền, chỉ thị phân tử

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là một đất nước đa dạng về loài và về sự phân bố các cây dược liệu quý, trong đó có nhân sâm. Việc nghiên cứu di truyền và đánh giá đa dạng bằng chỉ thị phân tử gen nhân có ý nghĩa quan trọng trong công tác chọn lọc và phát triển nhân sâm. Chỉ thị phân tử là công cụ đắc lực, hiệu quả trong nghiên cứu di truyền, phân loại và chọn lọc giống. Thay vì sử dụng các phương pháp cũ dựa trên cơ sở đánh giá một loạt các tính trạng hình thái gặp phải nhiều hạn chế như: tính chủ quan khi phân tích tính trạng, ảnh hưởng của môi trường và kỹ thuật canh tác lên tính trạng, sự khác biệt không rõ ràng giữa các loài/giống có nguồn gốc gần nhau, sự biểu hiện một vài dấu hiệu chuẩn đoán chỉ xuất hiện ở một giai đoạn cụ thể... Tại Hàn Quốc, việc sử dụng các chỉ thị phân tử dựa trên trình tự gen nhân trong phân loại các loài thuộc chi *Panax* cũng như kiểm định giống sâm đã được triển khai nhiều và đạt được nhiều kết quả mang tính ứng dụng cao (Choi *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2012; Um *et al.*, 2016). Đây được xem là tiền đề quan trọng cho công tác chọn tạo giống sâm chất lượng cao tại Hàn Quốc.

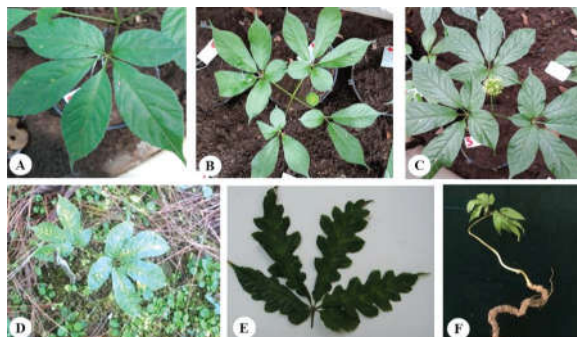
Ở nước ta, những công bố khoa học ở mức độ phân tử của các loài sâm Việt chủ yếu tập trung vào cơ sở trình tự nucleotide vùng trnK, 18S rRNA,

ITS-rADN và matK của lục lạp (Zhu *et al.*, 2003; Nguyễn Thị Phương Trang và *ctv.*, 2011; Nong Van Duy *et al.*, 2016; Phan Kế Long và *ctv.*, 2014b). Sử dụng hệ gen nhân để thiết kế chỉ thị phân tử sử dụng phân tích đa dạng di truyền các loài sâm Việt là hướng nghiên cứu mới tại Việt Nam. Nghiên cứu này có tính ứng dụng cao trong công tác nhận dạng, chọn lọc và phát triển các giống sâm có đặc tính tốt, chất lượng mang thương hiệu Việt. Trong nghiên cứu này, 17 chỉ thị phân tử được thiết kế, khảo sát khả năng khuếch đại và sử dụng để phân tích đa dạng di truyền các loài sâm Việt bao gồm sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* var. *vietnamensis*), sâm Lai Châu (*Panax vietnamensis* var. *fuscidiscus*), sâm Vũ Diệp (*Panax bipinatifidus*) và tam thất hoang (*Panax stipuleanatus*).

### II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

19 mẫu sâm Ngọc Linh (ký hiệu NL1 - NL19) thu thập tại các vườn bảo tồn tại Quảng Nam và Kon Tum; 03 mẫu sâm Lai Châu (ký hiệu LC1 - LC3) thu thập tại Lai Châu; 01 mẫu sâm Vũ Diệp (ký hiệu VD), 01 mẫu tam thất hoang (ký hiệu TTH) thu thập tại Lào Cai và 01 mẫu sâm Hàn Quốc (*Panax ginseng*). Hình ảnh một số mẫu sâm sử dụng trong nghiên cứu được thể hiện ở hình 1.



**Hình 1.** Một số mẫu sâm sử dụng trong nghiên cứu: sâm Ngọc Linh (A, B, C), sâm Lai Châu (D), sâm Vũ Diệp (E) và tam thất hoang (F)

<sup>1</sup> Viện Di truyền Nông nghiệp, VAAS